

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

T :

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 22 May 2000 (22.05.00)	
International application No. PCT/EP99/07518	Applicant's or agent's file reference 1998/F115 PCT
International filing date (day/month/year) 07 October 1999 (07.10.99)	Priority date (day/month/year) 09 October 1998 (09.10.98)
Applicant GALLERT, Karl-Christian et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

27 April 2000 (27.04.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No.: (41-22) 740.14.35</p>	<p>Authorized officer</p> <p>F. Baechler</p> <p>Telephone No.: (41-22) 338.83.38</p>
--	--

PCT

**NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE**

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

MAI, Peter
Luderschmidt, Schüler & Partner
Postfach 3929
65029 Wiesbaden
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 05 April 2001 (05.04.01)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 1998/F115 PCT	
International application No. PCT/EP99/07518	International filing date (day/month/year) 07 October 1999 (07.10.99)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address

AXIVA GMBH
D-65926 Frankfurt am Main
Germany

State of Nationality

DE

State of Residence

DE

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

2. The international Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person ☒ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address

CELANESE VENTURES GMBH
D-65926 Frankfurt am Main
Germany

State of Nationality

DE

State of Residence

DE

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

<input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office	<input type="checkbox"/> the designated Offices concerned
<input type="checkbox"/> the International Searching Authority	<input checked="" type="checkbox"/> the elected Offices concerned
<input type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority	<input type="checkbox"/> other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

G. Bähr

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

PCT

**NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE**

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES
GMBH & CO KG
Patent- und Lizenzabteilung
Gebäude D 706
Industriepark Höchst
D-65926 Frankfurt am Main
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 16 June 2000 (16.06.00)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 1998/F115 PCT	
International application No. PCT/EP99/07518	International filing date (day/month/year) 07 October 1999 (07.10.99)

1. The following indications appeared on record concerning: <input checked="" type="checkbox"/> the applicant <input type="checkbox"/> the inventor <input type="checkbox"/> the agent <input type="checkbox"/> the common representative			
Name and Address AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES GMBH & CO KG Patent- und Lizenzabteilung Gebäude K 801 Industriepark Höchst D-65926 Frankfurt am Main Germany		State of Nationality DE	State of Residence DE
		Telephone No. 069-305-4305	
		Facsimile No. 069-305-16350	
		Teleprinter No.	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning: <input type="checkbox"/> the person <input type="checkbox"/> the name <input checked="" type="checkbox"/> the address <input type="checkbox"/> the nationality <input type="checkbox"/> the residence			
Name and Address AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES GMBH & CO KG Patent- und Lizenzabteilung Gebäude D 706 Industriepark Höchst D-65926 Frankfurt am Main Germany		State of Nationality DE	State of Residence DE
		Telephone No. 069-305-4305	
		Facsimile No. 069-305-16350	
		Teleprinter No.	
3. Further observations, if necessary: 			
4. A copy of this notification has been sent to: <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office <input type="checkbox"/> the International Searching Authority <input checked="" type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority </div> <div> <input type="checkbox"/> the designated Offices concerned <input checked="" type="checkbox"/> the elected Offices concerned <input type="checkbox"/> other: </div> </div>			

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer G. Bähr Telephone No.: (41-22) 338.83.38
--	--

PCT

**NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE**

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

MAI, Peter
Postfach 3929
D-65029 Wiesbaden
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year)
05 October 2000 (05.10.00)

Applicant's or agent's file reference
1998/F115 PCT

International application No.
PCT/EP99/07518

IMPORTANT NOTIFICATION

International filing date (day/month/year)
07 October 1999 (07.10.99)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address

AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES
GMBH & CO KG
D-65926 Frankfurt am Main
Germany

State of Nationality
DE

State of Residence
DE

Telephone No.
069-305-4305

Facsimile No.
069-305-16350

Teleprinter No.

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person ☒ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address

AXIVA GMBH
D-65926 Frankfurt am Main
Germany

State of Nationality
DE

State of Residence
DE

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

Please note the new agent in the address box above.

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office ☐ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority ☒ the elected Offices concerned
☒ the International Preliminary Examining Authority ☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Dorothee Mülhausen

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESSENS

PCT

REC'D 22 JAN 2001

WIPO PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 1998/F115 PCT	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/07518	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 07/10/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 09/10/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12P19/18		
Anmelder AXIVA GMBH et al.		



- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

 Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.

- Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 27/04/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 18.01.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Korsner, S-E Tel. Nr. +49 89 2399 8554 

100

I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

1-19 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-12 eingegangen am 27/12/2000 mit Schreiben vom 21/12/2000

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbaren **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-12 (siehe aber VIII:1-3)
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-12
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-12 (siehe aber VIII:4)
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:
siehe Beiblatt

V. Begründete Feststellung

Das folgende Dokument wird als nächstliegender Stand der Technik angesehen:

D1 = WO-A-0014249 (E-Dokument; siehe Regel 64.3 PCT)

Neuheit (Artikel 33(2) PCT)

1.

Das beanspruchte Verfahren, die Endprodukte (siehe aber VIII:1) und ihre Verwendung sind neu im Hinblick auf den zitierten Stand der Technik.

2.

Bezüglich Anspruchs 2 (= ein Enzym), siehe VIII:2.

Erfinderische Tätigkeit (Artikel 33(3) PCT)

Nach der Kombination von den ursprünglichen Ansprüchen 1 und 2, wobei "biogene Stoff" eine in der Beschreibung gestützte und erfinderische Definition bekommen hat, wird der früheren Einwand zurückgezogen.

Die erfinderische Tätigkeit wird somit anerkannt.

VIII. Besondere Bemerkungen

1.

Die Ansprüche 1, 3-4 beziehen sich auf beliebige Polyglucan(derivate),

die durch das enzymatische Herstellungsverfahren erhältlich sind.
Gemäß der Lehre auf Seite 2, Zeilen 24-26, wird die Aktivität einer Amylosucrase (bekannt) in Gegenwart einer Transferase (erfindungsgemäß) gesteigert; das bedeutet aber nicht, daß alle Endprodukte zwangsläufig neu werden; siehe auch Beispiel 1.

Über die Neuheit dieser undefinierten Verbindungen (und somit auch ihre Verwendung) sollte in einer späteren Phase endgültig entschieden werden.

[Anspruch 1 ist auch unklar, weil das Enzymsubstrat fehlt.]

2.

SEQ. ID. No. 1 (Anspruch 2) ist in der Beschreibung (siehe Seite 3, Zeilen 15-17) nicht definiert; gemeint ist aber Sequenz 1 aus PCT/EP98/05573 (=WO-A-0014249/E-Dokument).

3.

Es ist unklar, was im Anspruch 4 mit der Definition "oder ein natur-identisches Polymer" beansprucht ist.

4.

Die Ansprüche 6-10 könnten auch eine therapeutische Behandlung des menschlichen oder tierischen Körpers umfassen; Regel 67.1(iv) PCT.

5.

Die Beschreibung sollte an den geänderten Anspruchssatz angepaßt werden; siehe Seiten 1-3 und 13-16.

- - - - -

Patentansprüche:

1. Polyglucan und / oder Polyglucanderivate, erhältlich aus Polyglucansucrase oder Amylosucrase in Gegenwart mindestens einer Transferase und/oder einer Glycosyltransferase.
2. Amylosucrase nach Anspruch 1 mit einer Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID. No. 1.
3. Polyglucanderivat nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Polyglucanderivat ein Polyglucan-Ester oder ein Polyglucan-Ether oder ein naturidentisches Polymer ist.
4. Polyglucanderivat nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Polyglucanderivat ein Propf-, Block-, Co-, statistisches Copolymer oder ein Stern-, Leiter- oder Bandpolymer ist.
5. Verfahren zur Herstellung von Polyglucanen und / oder Polyglucanderivaten nach Anspruch 1-4 dadurch gekennzeichnet, daß Amylosucrase in vitro mit mindestens einer Transferase und/oder einer Glycosyltransferase versetzt wird.
6. Verwendung von mindestens einem Polyglucan und / oder einem Polyglucanderivat nach Anspruch 1 bis 5 zur Verwendung als Wirkstoffträger.
7. Verwendung von mindestens einem Polyglucan und / oder einem Polyglucanderivat nach Anspruch 1 bis 5 als Depotsystem für mindestens einen Wirkstoff mit einem therapeutischen oder prophylaktischen Effekt.
8. Verwendung von mindestens einem Polyglucan und / oder einem Polyglucanderivat nach Anspruch 1 bis 5 für den pharmazeutischen Bereich, vorzugsweise Wirkstoffträger und/oder Tablettenhilfsstoff.
9. Verwendung von mindestens einem Polyglucan und / oder einem Polyglucanderivat nach Anspruch 1 bis 5 für den agrochemischen Bereich, vorzugsweise als Wirkstoffträger.
10. Verwendung von mindestens einem Polyglucan und / oder einem Polyglucanderivat nach Anspruch 1 bis 5 für kosmetische Anwendungen.

11. Verwendung von mindestens einem Polyglucan und / oder einem Polyglucanderivat nach Anspruch 1 bis 5 als Lebensmittel und / oder Lebensmittelzusatzstoff.
12. Verwendung von mindestens einem Polyglucan und / oder einem Polyglucanderivat nach Anspruch 1 bis 5 als Träger für Aromen und Duftstoffe.

09/807146
JC08 Rec'd PCT/PTO 06 APR 2001

Attorney Docket No.: 29988/AX98115

ANNEXES TO INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT



December 27, 2000

EP 009907518

Patent claims:

1. A polyglucan and/or polyglucan derivative obtainable from polyglucan sucrase or amylosucrase
5 in the presence of at least one transferase and/or one glycosyltransferase.
2. The amylosucrase as claimed in claim 1 having an amino acid sequence according to SEQ ID. No. 1.
10
3. The polyglucan derivative as claimed in one of the preceding claims, wherein the polyglucan derivative is a polyglucan ester or a polyglucan ether or a nature-identical polymer.
15
4. The polyglucan derivative as claimed in one of the preceding claims, wherein the polyglucan derivative is a graft polymer, block polymer, copolymer, random copolymer or a starburst polymer, ladder polymer or band polymer.
20
5. A process for producing polyglucans and/or polyglucan derivatives as claimed in claims 1-4, which comprises at least one transferase and/or
25 one glycoside transferase being added to amylosucrase in vitro.
6. The use of at least one polyglucan and/or one polyglucan derivative as claimed in claims 1 to 5
30 for use as excipient.
7. The use of at least one polyglucan and/or one polyglucan derivative as claimed in claims 1 to 5 as depot system for at least one active component
35 having a therapeutic or prophylactic effect.
8. The use of at least one polyglucan and/or one polyglucan derivative as claimed in claims 1 to 5



for the pharmaceutical sector, preferably
excipient and/or tableting aid.

- 5 9. The use of at least one polyglucan and/or one
polyglucan derivative as claimed in claims 1 to 5
for the agrochemical sector, preferably as
carrier.
- 10 10. The use of at least one polyglucan and/or one
polyglucan derivative as claimed in claims 1 to 5
for cosmetic applications.
- 15 11. The use of at least one polyglucan and/or one
polyglucan derivative as claimed in claims 1 to 5
as food and/or food additive.
12. The use of at least one polyglucan and/or one
polyglucan derivative as claimed in claims 1 to 5
as carrier for flavorings and fragrances.

09/807146

Powered by  DIALOG

JC08 Rec'd PCT/PTO 06 APR 2001

New nucleic acid encoding a branching enzyme, useful for in vitro synthesis of branched glucans and to prepare transgenic plants producing modified starch

Patent Assignee: MAX PLANCK GES FOERDERUNG WISSENSCHAFTEN; PLANTTEC BIOTECHNOLOGIE GMBH

Inventors: BUETTCHER V; QUANZ M

Patent Family

Patent Number	Kind	Date	Application Number	Kind	Date	Week	Type
WO 200022140	A1	20000420	WO 99EP7562	A	19991008	200027	B
DE 19846635	A1	20000511	DE 1046635	A	19981009	200030	
AU 9964697	A	20000501	AU 9964697	A	19991008	200036	
DE 19924342	A1	20001130	DE 1024342	A	19990527	200064	

Priority Applications (Number Kind Date): DE 1024342 A (19990527); DE 1046635 A (19981009)

Patent Details

Patent	Kind	Language	Page	Main IPC	Filing Notes
WO 200022140	A1	G	114	C12N-015/54	
Designated States (National): AE AL AM AT AU AZ BA BB BG BR BY CA CH CN CR CU CZ DE DK DM EE ES FI GB GD GE GH GM HR HU ID IL IN IS JP KE KG KP KR KZ LC LK LR LS LT LU LV MA MD MG MK MN MW MX NO NZ PL PT RO RU SD SE SG SISK SL TJ TM TR TT UA UG US UZ VN YU ZA ZW					
Designated States (Regional): AT BE CH CY DE DK EA ES FIFR GB GH GM GR IE IT KE LS LU MC MW NL OA PT SD SE SL SZ TZ UG ZW					
DE 19846635	A1			C12N-009/10	
AU 9964697	A			C12N-015/54	Based on patent WO200022140
DE 19924342	A1			C12N-015/54	

Abstract:

WO 200022140 A1

NOVELTY A nucleic acid (I) isolated from Neisseria encodes a branching enzyme (II).

DETAILED DESCRIPTION (I) has a fully defined 2475 bp sequence (given in the specification and encodes;

- (i) a protein with a fully defined 762 amino acid sequence (given in the specification); or
- (ii) a protein encoded by the insert in plasmid DSM 12425.

INDEPENDENT CLAIMS are also included for the following:

- (1) a vector containing (I);
- (2) host cells transformed with (I) or the vector in (1);
- (3) production of (II) by in vitro transcription and translation of (I);
- (4) antibodies (Ab) against (II);
- (5) transgenic plant cell containing (I), linked to regulatory sequences functional in plants;
- (6) transgenic plants containing the cells of (5) and their harvestable parts;
- (7) production of the plants of (h);
- (8) native regulatory region (RR) that controls transcription of (I) in bacteria; and
- (9) in vitro production of alpha-1,6-branched alpha-1,4-glucans (III) using sucrose as substrate and a combination of an amylosucrase and a branching enzyme (BE).

USE (I) is used for recombinant production of (II) subsequently used in their vitro production of alpha-1,6-branched alpha-1,4-glucans. It is also used to prepare transgenic plants that produce starches with modified properties. (III) are used as binders for tablets, carriers for pharmaceuticals, flavors and perfumes and powdered additives, packaging materials, ultra-violet light adsorbers in sunscreens and also for any of the usual applications of starch in foods, papermaking, as textile size, in soil stabilization, as wetting agent for agricultural chemicals, as polymer additives etc. Fragments of (I) are useful as PCR primers and antisense molecules or ribozymes for inhibiting expression of (I), and the regulatory region of (II) can be used to control expression of heterologous sequences in host cells.

ADVANTAGE (I) provides an inexpensive method for producing alpha-1,6-branched alpha-1,4-glucans (III), producing products that can be tailored for particular applications, particularly by controlling the degree of branching. Starch from transgenic plants has increased gel strength; reduced phosphate content; reduced peak viscosity; lower pasting temperature and granule size and/or altered sidechain distribution.

pp; 114 DwgNo 0/20

Technology Focus:

TECHNOLOGY FOCUS - BIOTECHNOLOGY - Preferred Vectors: These contain (I) in the sense orientation plus regulatory sequences that ensure transcription in prokaryotic or eukaryotic cells.

Preferred Recombinants: These contain (I) linked to a signal sequence that directs (I) to plastids. They are from fiber plants; plants that store oil, sugars or proteins; fodder plants or vegetables, particularly starch-storing plants and especially maize, rice, wheat or potato. Preferred Nucleic Acid: RR

(i) contains region 1-169 of (1);

(ii) is present in the insert of DSM 12425; or

(iii) hybridizes to (i) or (ii) under stringent conditions.

Preparation: A genomic DNA bank was constructed conventionally from *Neisseria denitrificans*, in the *Escherichia coli* PGM- mutant. Colonies were selected for staining with iodine vapor when grown on maltose-containing medium, and after a second round of screening, inserts in the four positive colonies were sequenced. These all contained the same sequence, (1). The plasmid contained in one colony, pBB48, has been deposited as DSM 12425. Once isolated, the sequence can be used to transform cells (including plant cells for subsequent regeneration to plants) by standard methods, for subsequent expression of (II).

BIOLOGY - Preferred Method: BE is particularly encoded by (I), and the amylosucrase is from *N. polysacchara*.

Derwent World Patents Index

© 2001 Derwent Information Ltd. All rights reserved.

Dialog® File Number 351 Accession Number 13146120

PCT

ORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ : C12P 19/18, C12N 9/10, 15/54, C08B 30/00, A61K 47/36	A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/22155 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 20. April 2000 (20.04.00)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/07518 (22) Internationales Anmeldedatum: 7. Oktober 1999 (07.10.99) (30) Prioritätsdaten: ✓ 198 46 492.4 9. Oktober 1998 (09.10.98) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES GMBH & CO KG [DE/DE]; D-65926 Frankfurt am Main (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): GALLERT, Karl-Christian [DE/DE]; Rendeler Strasse 91, D-61184 Karben (DE). BENGES, Holger [DE/DE]; Bindingstrasse 3, D-60598 Frankfurt am Main (DE). SIMANDI, Claus [DE/DE]; Sossenheimer Mühlgasse 10, D-65936 Frankfurt an Main (DE).		(81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, CN, CZ, HR, HU, JP, KR, NO, PL, RU, US, ZA, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>
(54) Title: POLYGLUCAN AND POLYGLUCAN DERIVATIVES WHICH CAN BE OBTAINED FROM AMYLOSUCRASE BY BIOCATALYTIC PRODUCTION IN THE PRESENCE OF BIOGENIC SUBSTANCES (54) Bezeichnung: POLYGLUCAN UND POLYGLUCANDERIVATE, ERHÄLTICH AUS AMYLOSUCRASE BIOKATALYTISCHER HERSTELLUNG IN GEGENWART BIOGENER STOFFE (57) Abstract <p>The invention relates to polyglucans and polyglucan derivatives which can be produced from polyglucan sucrase or from amylosucrase by biocatalytic production in the presence of biogenic substances. The invention also relates to a method for the production thereof and to their use.</p> (57) Zusammenfassung <p>Die Erfindung betrifft Polyglucane und Polyglucanderivate hergestellt aus Polyglucansucrase oder Amylosucrase in biokatalytischer Herstellung, in Gegenwart biogener Stoffe und ein Verfahren zu deren Herstellung und deren Verwendung.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbajdschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauritanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire			PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Polyglucan und Polyglucanderivate erhältlich aus Amylosucrase biokatalytischer Herstellung in Gegenwart biogener Stoffe

5 Die Erfindung hat zum Gegenstand die Herstellung von Polyglucan und Polyglucanderivaten mittels rekombinanter Amylosucrase in Gegenwart biogener Stoffe und ein Verfahren zu deren Herstellung und deren Verwendung.

10 Die biotechnologische Industrie ist interessiert an der Herstellung von neuen biologisch verträglichen Stoffen und Verfahren zu deren kostengünstigen Herstellung.

15 Die Herstellung von linearen Polyglucanen mittels biokatalytischer Herstellung ist beschrieben in WO 95/31553 unter Verwendung rekombinanter Amylosucrase. Im Rahmen dieser Erfindung wird sich ausdrücklich auf diese Schrift bezogen. Insbesondere zeigt die dort beschriebene rekombinante Amylosucrase die Aktivität der nativen Amylosucrase.

20 WO 95/31553 beschreibt ferner die Herstellung linearer Polysaccharide mittels Biotransformation, wobei das lineare Polysaccharid durch katalytische Reaktion von monomeren Grundbausteinen wie oligomeren Sacchariden, z.B. von Mono- und / oder Disacchariden hergestellt wird. Insbesondere wird Poly(1,4-alpha-D-glucan) in WO 95/31553 mittels einer Polysaccharidsynthase, die alpha-1,4-
25 Glycosyltransferase oder synonym Amylosucrase (EC 2.4.1.4) synthetisiert. WO 95/31553 und PCT/EP 98/05573 offenbaren zudem Nukleinsäuresequenzen , welche in E. coli zu einem Protein mit der Aktivität einer Amylosucrase führt.

30 Die derart biokatalytisch erhaltenen linearen Polymere haben in vielen Anwendungen gegenüber verzweigten Polymeren einen Anwendungsvorteil hinsichtlich der Verarbeitbarkeit oder spezieller Eigenschaften, wie zum Beispiel die mechanische Stabilität und Beanspruchbarkeit. Darüber hinaus sind im pharmazeutischen (Human- und Veterinärbereich), medizinischen (Human- und

Veterinärbereich), kosmetischen oder agrochemischen Bereich Anwendungen von großer kommerzieller Wichtigkeit, bei denen Eigenschaften oder Eigenschaftskombinationen benötigt werden, die durch lineare Polymere entweder nicht erhalten werden oder aber deren spezielle Eigenschaften für eine Anwendung in den oben genannten oder anderen Anwendungsbereichen über das für die spezielle Anwendung notwendige Maß hinausgehen. Das Erreichen spezieller Eigenschaften ist mit höheren Herstellungskosten verbunden. Sofern diese Eigenschaften in der Anwendung nicht benötigt werden, ist diese Vorgehensweise zu vermeiden. Eigenschaften, die nicht unbedingt die Verwendung linearer Polymere erfordern, können zum Beispiel in der besseren Formbarkeit der Herstellung von Probenkörpern spezieller Geometrie, der Porosität von Probenkörpern für die allgemeine Freisetzung von Wirkstoffen jedweder Art, insbesondere im Pharma- und Agrobereich, die Quellbarkeit, die leichtere chemische Modifizierbarkeit aufgrund leichter zugänglicher funktioneller Gruppen und anderes betreffen.

Okada et al. (J. Biol. Chem. (1974), 249, 126) beschreibt, daß in Gegenwart nativer Amylosucrase mit Verunreinigungen von Dextrinyltransferase zu spezifischen Verzweigungen im Molekül führt.

Bekannt ist ebenfalls, daß Primer die Aktivität nativer Amylosucrase beeinflussen (Vgl. DE 19860376.2).

Überraschender Weise zeigt sich, daß die Aktivität einer Amylosucrase in Gegenwart biogener Stoffe – vorzugsweise anderer Enzyme - nicht beeinträchtigt, sondern vielmehr im Rahmen der Produktion vorteilhaft gesteigert ist.

Für die industrielle Produktion ist es von Bedeutung, wirtschaftlich wertvolle Produkte zu erhalten. Zudem sollen Produkte erhalten werden, die biokompatibel sind und für zahlreiche biowissenschaftliche und materialwissenschaftliche Anwendungen verwendet werden können. Der Vorteil solcher Produkte liegt darin, daß sie unter anderem für den Einsatz an und in Lebewesen, besonders im

Humanbereich geeignet sind (Kosmetik, Lebensmittel, Pharmazie, Medizin) und durch die Biokompatibilität ebenfalls die Entsorgung nach ihrem Einsatz in technischen Bereichen überwiegend problemlos ist.

5 Daher ist es Aufgabe der Erfindung rekombinante Amylosucrase modifiziert in biotechnologischen Verfahren zur Polyglucan - Herstellung und deren Derivate in vitro einzusetzen und neue Produkte zu erhalten. In vitro Verfahren ermöglichen die Herstellung reproduzierbarer Produkte gleicher Qualität und Güte (siehe Beispiel).

10 Die erfindungsgemäße Aufgabe wird dadurch gelöst, daß rekombinante Polyglucansucrase in Gegenwart von biogenen Stoffen – vorzugsweise Enzyme - eingesetzt und zur Herstellung von Polyglucan und Polyglucanderivaten verwendet wird.

15 Besonders bevorzugt sind solche Polyglucansucrasen, wie in PCT/EP 98/05573 offenbart (vgl. SEQ ID No. 1). Daher betrifft die Erfindung eine Amylosucrase mit der Aminosäuresequenz SEQ ID No. 1 oder eine redundante Variante.

20 Im Sinne dieser Erfindung umfaßt der Begriff Polyglucan und Polyglucanderivate insbesondere Amylose und Amyloederivate.

Vorteilhaft ist die überraschend hohe Produkteinheitlichkeit der erhaltenen Polyglucan und Polyglucanderivate, insbesondere der erzielten Molekulargewichte. Je nach der Verwendung einzelner biogener Stoffe, insbesondere Enzyme, können
25 sehr unterschiedliche Polyglucane und / oder Polyglucanderivate erhalten werden, deren Molekulargewicht von 10^3 bis 10^9 Dalton variieren. Bevorzugte Molekulargewichte liegen im Bereich von 5×10^3 bis 10^6 Dalton, besonders bevorzugt im Bereich von 5×10^3 bis 5×10^4 Dalton.

30 Vorteilhaft ist die Vielfalt der erhaltenen Produkte und deren möglichen Kombination. Hieraus, insbesondere bei geeigneter Kombination der Polymere hinsichtlich ihrer Molekulargewichte und / oder zugrundeliegenden Primärstrukturen

können besondere Eigenschaftsmerkmale kombiniert werden oder aber die Verarbeitbarkeit in spezieller Weise beeinflusst werden. Dies gilt insbesondere bei der Verarbeitung nach Verarbeitungsverfahren der klassischen Polymerchemie, insbesondere in technischen Anwendungen.

5

10

15

Die erfindungsgemäßen Polyglucane und Polyglucanderivate zeichnen sich darüber hinaus durch eine hohe Vielfalt aus, die durch die Polydispersität der Polyglucane und Polyglucanderivate bestimmt werden. Die Polydispersität kann dabei in weiten Bereichen variieren. Dabei sind für verschiedene Verwendungen durchaus verschiedene Polydispersitäten von Interesse. Die Polydispersität, die sich aus dem Quotienten von Polymergewichtsmittelwert und Polymerzahlenmittelwert ergibt, kann von 1,0 bis 100 oder größer variieren, wobei für spezielle Anwendungen Polydispersitäten im Bereich von 1,1 bis 15 bevorzugt sind. Besonders vorteilhaft zeichnen sich Polyglucane oder Polyglucanderivate aus, die Polydispersitäten im Bereich von 1,1 bis 5 aufweisen.

20

"Biokompatibel" im Sinne dieser Erfindung bedeutet, daß die eingesetzten Polysaccharide einem vollständigen biologischen Abbau unterzogen werden und keine schädliche Anreicherung in der Nahrungskette insbesondere dem humanen Organismus erfolgt.

25

Unter biologischen Abbau ist dabei jedweder in vivo ablaufende Vorgang angesprochen, der zu einem Abbau oder Zerstörung des Polymers führt. Insbesondere fallen ebenfalls hydrolytische oder enzymatische Prozesse in diesen Bereich. Für die Biokompatibilität der Polysaccharide sowie seiner Abbauprodukte (Metabolite) ist nicht zuletzt auch der naturidentische Charakter der eingesetzten Polysaccharide von hoher Bedeutung. Daher sind die in Frage kommenden Polysaccharide ebenfalls für den therapeutischen, diagnostischen oder prophylaktischen Einsatz besonders geeignet.

30

Insbesondere können durch sogenannte Enzymgemische gesteigerte Ausbeuten an Polyglucan und Polyglucanderivate erhalten werden.

Als vorteilhafte Enzyme kommen vorzugsweise in Betracht ohne, daß die nachfolgende Liste einen abschließenden Charakter hat: Transferasen und Glycosyltransferasen

- 5 2.4.1.1 Phosphorylase.
- 2.4.1.2 Dextrin dextranase.
- 2.4.1.5 Dextransucrase.
- 2.4.1.7 Sucrose phosphorylase.
- 2.4.1.8 Maltose phosphorylase.
- 10 2.4.1.9 Inulosucrase.
- 2.4.1.10 Levansucrase.
- 2.4.1.11 Glycogen (starch) synthase.
- 2.4.1.12 Cellulose synthase (UDP-forming).
- 2.4.1.13 Sucrose synthase.
- 15 2.4.1.14 Sucrose-phosphate synthase.
- 2.4.1.15 Alpha,alpha-trehalose-phosphate synthase (UDP-forming).
- 2.4.1.16 Chitin synthase.
- 2.4.1.17 UDP-glucuronosyltransferase.
- 2.4.1.18 1,4-alpha-glucan branching enzyme.
- 20 2.4.1.19 Cyclomaltodextrin glucanotransferase.
- 2.4.1.20 Cellobiose phosphorylase.
- 2.4.1.21 Starch (bacterial glycogen) synthase.
- 2.4.1.22 Lactose synthase.
- 2.4.1.23 Sphingosine beta-galactosyltransferase.
- 25 2.4.1.24 1,4-alpha-glucan 6-alpha-glucosyltransferase.
- 2.4.1.25 4-alpha-glucanotransferase.
- 2.4.1.26 DNA alpha-glucosyltransferase.
- 2.4.1.27 DNA beta-glucosyltransferase.
- 2.4.1.28 Glucosyl-DNA beta-glucosyltransferase.
- 30 2.4.1.29 Cellulose synthase (GDP-forming).
- 2.4.1.30 1,3-beta-oligoglucan phosphorylase.
- 2.4.1.31 Laminaribiose phosphorylase.

- 2.4.1.32 Glucomannan 4-beta-mannosyltransferase.
- 2.4.1.33 Alginate synthase.
- 2.4.1.34 1,3-beta-glucan synthase.
- 2.4.1.35 Phenol beta-glucosyltransferase.
- 5 2.4.1.36 Alpha,alpha-trehalose-phosphate synthase (GDP-forming).
- 2.4.1.37 Glycoprotein-fucosylgalactoside alpha-galactosyltransferase.
- 2.4.1.38 Beta-N-acetylglucosaminy-glycopeptide beta-1,4-galactosyltransferase.
- 2.4.1.39 Steroid N-acetylglucosaminytransferase.
- 2.4.1.40 Glycoprotein-fucosylgalactoside alpha-N-
- 10 acetylgalactosaminytransferase.
- 2.4.1.41 Polypeptide N-acetylgalactosaminytransferase.
- 2.4.1.43 Polygalacturonate 4-alpha-galacturonosyltransferase.
- 2.4.1.44 Lipopolysaccharide galactosyltransferase.
- 2.4.1.45 2-hydroxyacylsphingosine 1-beta-galactosyltransferase.
- 15 2.4.1.46 1,2-diacylglycerol 3-beta-galactosyltransferase.
- 2.4.1.47 N-acylsphingosine galactosyltransferase.
- 2.4.1.48 Heteroglycan alpha-mannosyltransferase.
- 2.4.1.49 Cellodextrin phosphorylase.
- 2.4.1.50 Procollagen galactosyltransferase.
- 20 2.4.1.52 Poly(glycerol-phosphate) alpha-glucosyltransferase.
- 2.4.1.53 Poly(ribitol-phosphate) beta-glucosyltransferase.
- 2.4.1.54 Undecaprenyl-phosphate mannosyltransferase.
- 2.4.1.55 Transferred entry: 2.7.8.14.
- 2.4.1.56 Lipopolysaccharide N-acetylglucosaminytransferase.
- 25 2.4.1.57 Phosphatidyl-myo-inositol alpha-mannosyltransferase.
- 2.4.1.58 Lipopolysaccharide glucosyltransferase I.
- 2.4.1.60 Abequosyltransferase.
- 2.4.1.62 Ganglioside galactosyltransferase.
- 2.4.1.63 Linamarin synthase.
- 30 2.4.1.64 Alpha,alpha-trehalose phosphorylase.
- 2.4.1.65 Galactoside 3(4)-L-fucosyltransferase.
- 2.4.1.66 Procollagen glucosyltransferase.

- 2.4.1.67 Galactinol-raffinose galactosyltransferase.
- 2.4.1.68 Glycoprotein 6-alpha-L-fucosyltransferase.
- 2.4.1.69 Galactoside 2-L-fucosyltransferase.
- 2.4.1.70 Poly(ribitol-phosphate) N-acetylglucosaminyltransferase.
- 5 2.4.1.71 Arylamine glucosyltransferase.
- 2.4.1.72 Transferred entry: 2.4.2.24.
- 2.4.1.73 Lipopolysaccharide glucosyltransferase II.
- 2.4.1.74 Glycosaminoglycan galactosyltransferase.
- 2.4.1.75 UDP-galacturonosyltransferase.
- 10 2.4.1.78 Phosphopolyprenol glucosyltransferase.
- 2.4.1.79 Galactosylgalactosylglucosylceramide beta-D-acetyl-
galactosaminyltransferase.
- 2.4.1.80 Ceramide glucosyltransferase.
- 2.4.1.81 Flavone 7-O-beta-glucosyltransferase.
- 15 2.4.1.82 Galactinol--sucrose galactosyltransferase.
- 2.4.1.83 Dolichyl-phosphate beta-D-mannosyltransferase.
- 2.4.1.85 Cyanohydrin beta-glucosyltransferase.
- 2.4.1.86 Glucosaminylgalactosylglucosylceramide beta-galactosyltransferase.
- 2.4.1.87 Beta-galactosyl-N-acetylglucosaminylglycopeptide alpha-1,3-
20 galactosyltransferase.
- 2.4.1.88 Globoside alpha-N-acetylglactosaminyltransferase.
- 2.4.1.90 N-acetyllactosamine synthase.
- 2.4.1.91 Flavonol 3-O-glucosyltransferase.
- 2.4.1.92 (N-acetylneuraminy)-galactosylglucosylceramide
25 N-acetylgalactosaminyltransferase.
- 2.4.1.93 Inulin fructotransferase (depolymerizing).
- 2.4.1.94 Protein N-acetylglucosaminyltransferase.
- 2.4.1.95 Bilirubin-glucuronoside glucuronosyltransferase.
- 2.4.1.96 Sn-glycerol-3-phosphate 1-galactosyltransferase.
- 30 2.4.1.97 1,3-beta-glucan phosphorylase.
- 2.4.1.99 Sucrose 1F-fructosyltransferase.
- 2.4.1.100 1,2-beta-fructan 1F-fructosyltransferase.

- 2.4.1.101 Alpha-1,3-mannosyl-glycoprotein beta-1,2-N-acetylglucosaminyltransferase.
- 2.4.1.102 Beta-1,3-galactosyl-O-glycosyl-glycoprotein beta-1,6-N-acetylglucosaminyltransferase.
- 5 2.4.1.103 Alizarin 2-beta-glucosyltransferase.
- 2.4.1.104 O-dihydroxycoumarin 7-O-glucosyltransferase.
- 2.4.1.105 Vitexin beta-glucosyltransferase.
- 2.4.1.106 Isovitexin beta-glucosyltransferase.
- 2.4.1.109 Dolichyl-phosphate-mannose--protein mannosyltransferase.
- 10 2.4.1.110 tRNA-queuosine beta-mannosyltransferase.
- 2.4.1.111 Coniferyl-alcohol glucosyltransferase.
- 2.4.1.112 Alpha-1,4-glucan-protein synthase (UDP-forming).
- 2.4.1.113 Alpha-1,4-glucan-protein synthase (ADP-forming).
- 2.4.1.114 2-coumarate O-beta-glucosyltransferase.
- 15 2.4.1.115 Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase.
- 2.4.1.116 Cyanidin-3-rhamnosylglucoside 5-O-glucosyltransferase.
- 2.4.1.117 Dolichyl-phosphate beta-glucosyltransferase.
- 2.4.1.118 Cytokinin 7-beta-glucosyltransferase.
- 2.4.1.119 Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase.
- 20 2.4.1.120 Sinapate 1-glucosyltransferase.
- 2.4.1.121 Indole-3-acetate beta-glucosyltransferase.
- 2.4.1.122 Glycoprotein-N-acetylgalactosamine 3-beta-galactosyltransferase.
- 2.4.1.123 Inositol 1-alpha-galactosyltransferase.
- 2.4.1.124 N-acetyllactosamine 3-alpha-galactosyltransferase.
- 25 2.4.1.125 Sucrose-1,6-alpha-glucan 3(6)-alpha-glucosyltransferase.
- 2.4.1.126 Hydroxycinnamate 4-beta-glucosyltransferase.
- 2.4.1.127 Monoterpenol beta-glucosyltransferase.
- 2.4.1.128 Scopoletin glucosyltransferase.
- 2.4.1.129 Peptidoglycan glycosyltransferase.
- 30 2.4.1.130 Dolichyl-phosphate-mannose-glycolipid alpha-mannosyltransferase.
- 2.4.1.131 Glycolipid 2-alpha-mannosyltransferase.
- 2.4.1.132 Glycolipid 3-alpha-mannosyltransferase.

- 2.4.1.133 Xylosylprotein 4-beta-galactosyltransferase.
- 2.4.1.134 Galactosylxylosylprotein 3-beta-galactosyltransferase.
- 2.4.1.135 Galactosylgalactosylxylosylprotein 3-beta-glucuronosyltransferase.
- 2.4.1.136 Gallate 1-beta-glucosyltransferase.
- 5 2.4.1.137 Sn-glycerol-3-phosphate 2-alpha-galactosyltransferase.
- 2.4.1.138 Mannotetraose 2-alpha-N-acetylglucosaminyltransferase.
- 2.4.1.139 Maltose synthase.
- 2.4.1.140 Alternansucrase.
- 2.4.1.141 N-acetylglucosaminyldiphosphodolichol N-acetylglucosaminyltransferase.
- 10 2.4.1.142 Chitobiosyldiphosphodolichol alpha-mannosyltransferase.
- 2.4.1.143 Alpha-1,6-mannosyl-glycoprotein beta-1,2-N-acetylglucosaminyltransferase.
- 2.4.1.144 Beta-1,4-mannosyl-glycoprotein beta-1,4-N-acetylglucosaminyltransferase.
- 15 2.4.1.145 Alpha-1,3-mannosyl-glycoprotein beta-1,4-N-acetylglucosaminyltransferase.
- 2.4.1.146 Beta-1,3-galactosyl-O-glycosyl-glycoprotein beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase.
- 2.4.1.147 Acetylgalactosaminy-O-glycosyl-glycoprotein beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase.
- 20 2.4.1.148 Acetylgalactosaminy-O-glycosyl-glycoprotein beta-1,6-N-acetylglucosaminyltransferase.
- 2.4.1.149 N-acetyllactosaminide beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase.
- 2.4.1.150 N-acetyllactosaminide beta-1,6-N-acetylglucosaminyltransferase.
- 25 2.4.1.151 N-acetyllactosaminide alpha-1,3-galactosyltransferase.
- 2.4.1.152 Galactoside 3-fucosyltransferase.
- 2.4.1.153 Dolichyl-phosphate alpha-N-acetylglucosaminyltransferase.
- 2.4.1.154 Globotriosylceramide beta-1,6-N-acetylgalactosaminytransferase.
- 2.4.1.155 Alpha-1,3(6)-mannosylglycoprotein beta-1,6-N-acetylglucosaminyltransferase.
- 30 2.4.1.156 Indolylacetyl-myo-inositol galactosyltransferase.
- 2.4.1.157 1,2-diacylglycerol 3-glucosyltransferase.

- 2.4.1.158 13-hydroxydocosanoate 13-beta-glucosyltransferase.
- 2.4.1.159 Flavonol-3-O-glucoside L-rhamnosyltransferase.
- 2.4.1.160 Pyridoxine 5'-O-beta-D-glucosyltransferase.
- 2.4.1.161 Oligosaccharide 4-alpha-D-glucosyltransferase.
- 5 2.4.1.162 Aldose beta-D-fructosyltransferase.
- 2.4.1.163 Beta-galactosyl-N-acetylglucosaminylgalactosyl-glucosylceramide
Beta-1,3-acetylglucosaminyltransferase.
- 2.4.1.164 Galactosyl-N-acetylglucosaminylgalactosyl-glucosylceramide beta-1,6-
N-acetylglucosaminyltransferase.
- 10 2.4.1.165 N-acetylneuraminylgalactosylglucosylceramide beta-1,4-N-
acetylglactosaminyltransferase.
- 2.4.1.166 Raffinose--raffinose alpha-galactosyltransferase.
- 2.4.1.167 Sucrose 6(F)-alpha-galactosyltransferase.
- 2.4.1.168 Xyloglucan 4-glucosyltransferase.
- 15 2.4.1.169 Xyloglucan 6-xylosyltransferase.
- 2.4.1.170 Isoflavone 7-O-glucosyltransferase.
- 2.4.1.171 Methyl-ONN-azoxymethanol glucosyltransferase.
- 2.4.1.172 Salicyl-alcohol glucosyltransferase.
- 2.4.1.173 Sterol glucosyltransferase.
- 20 2.4.1.174 Glucuronylgalactosylproteoglycan beta-1,4-N-
acetylglactosaminyltransferase.
- 2.4.1.175 Glucuronyl-N-acetylglactosaminylproteoglycan beta-1,4-N-
acetylglactosaminyltransferase.
- 2.4.1.176 Gibberellin beta-glucosyltransferase.
- 25 2.4.1.177 Cinnamate glucosyltransferase.
- 2.4.1.178 Hydroxymandelonitrile glucosyltransferase.
- 2.4.1.179 Lactosylceramide beta-1,3-galactosyltransferase.
- 2.4.1.180 Lipopolysaccharide N-acetylmannosaminouronosyltransferase.
- 2.4.1.181 Hydroxyanthraquinone glucosyltransferase.
- 30 2.4.1.182 Lipid-A-disaccharide synthase.
- 2.4.1.183 Alpha-1,3-glucan synthase.
- 2.4.1.184 Galactolipid galactosyltransferase.

- 2.4.1.185 Flavonone 7-O-beta-glucosyltransferase.
- 2.4.1.186 Glycogenin glucosyltransferase.
- 2.4.1.187 N-acetylglucosaminyldiphosphoundecaprenol N-acetyl-beta-D-mannosaminytransferase.
- 5 2.4.1.188 N-acetylglucosaminyldiphosphoundecaprenol glucosyltransferase.
- 2.4.1.189 Luteolin 7-O-glucuronosyltransferase.
- 2.4.1.190 Luteolin-7-O-glucuronide 7-O-glucuronosyltransferase.
- 2.4.1.191 Luteolin-7-O-diglucuronide 4'-O-glucuronosyl-transferase.
- 2.4.1.192 Nuatigenin 3-beta-glucosyltransferase.
- 10 2.4.1.193 Sarsapogenin 3-beta-glucosyltransferase.
- 2.4.1.194 4-hydroxybenzoate 4-O-beta-D-glucosyltransferase.
- 2.4.1.195 Thiohydroximate beta-D-glucosyltransferase.
- 2.4.1.196 Nicotinate glucosyltransferase.
- 2.4.1.197 High-mannose-oligosaccharide beta-1,4-N-acetyl-glucosaminytransferase.
- 15 2.4.1.198 Phosphatidylinositol N-acetylglucosaminytransferase.
- 2.4.1.199 Beta-mannosylphosphodecaprenol-mannooligosaccharide 6-mannosyltransferase.
- 2.4.1.200 Inulin fructotransferase (depolymerizing, difructofuranose-1,2':2',1-dianhydride-forming).
- 20 2.4.1.201 Mannosyl-glycoprotein beta-1,4-N-acetylglucosaminy-transferase.
- 2.4.1.202 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one 2-D-glucosyltransferase.
- 2.4.1.203 Zeatin O-beta-D-glucosyltransferase.
- 25 2.4.1.204 Zeatin O-beta-D-xylosyltransferase.
- 2.4.1.205 Galactogen 6-beta-galactosyltransferase.
- 2.4.1.206 Lactosylceramide 1,3-N-acetyl-beta-D-glucosaminy-transferase.
- 2.4.1.207 Xyloglucan:xyloglucosyl transferase.
- 2.4.1.208 Diglucosyl diacylglycerol (DGlcDAG) synthase.
- 30 2.4.2.1 Purine-nucleoside phosphorylase.
- 2.4.2.2 Pyrimidine-nucleoside phosphorylase.
- 2.4.2.3 Uridine phosphorylase.

- 2.4.2.4 Thymidine phosphorylase.
- 2.4.2.5 Nucleoside ribosyltransferase.
- 2.4.2.6 Nucleoside deoxyribosyltransferase.
- 2.4.2.7 Adenine phosphoribosyltransferase.
- 5 2.4.2.8 Hypoxanthine phosphoribosyltransferase.
- 2.4.2.9 Uracil phosphoribosyltransferase.
- 2.4.2.10 Orotate phosphoribosyltransferase.
- 2.4.2.11 Nicotinate phosphoribosyltransferase.
- 2.4.2.12 Nicotinamide phosphoribosyltransferase.
- 10 2.4.2.13 Transferred entry: 2.5.1.6.
- 2.4.2.14 Amidophosphoribosyltransferase.
- 2.4.2.15 Guanosine phosphorylase.
- 2.4.2.16 Urate-ribonucleotide phosphorylase.
- 2.4.2.17 ATP phosphoribosyltransferase.
- 15 2.4.2.18 Anthranilate phosphoribosyltransferase.
- 2.4.2.19 Nicotinate-nucleotide pyrophosphorylase (carboxylating).
- 2.4.2.20 Dioxotetrahydropyrimidine phosphoribosyltransferase.
- 2.4.2.21 Nicotinate-nucleotide-dimethylbenzimidazole phosphoribosyltransferase.
- 2.4.2.22 Xanthine-guanine phosphoribosyltransferase.
- 20 2.4.2.23 Deoxyuridine phosphorylase.
- 2.4.2.24 1,4-beta-D-xylan synthase.
- 2.4.2.25 Flavone apiosyltransferase.
- 2.4.2.26 Protein xylosyltransferase.
- 2.4.2.27 dTDP-dihydrostreptose-streptidine-6-phosphate
- 25 dihydrostreptosyltransferase.
- 2.4.2.28 5'-methylthioadenosine phosphorylase.
- 2.4.2.29 Queueine tRNA-ribosyltransferase.
- 2.4.2.30 NAD(+) ADP-ribosyltransferase.
- 2.4.2.31 NAD(P)(+)-arginine ADP-ribosyltransferase.
- 30 2.4.2.32 Dolichyl-phosphate D-xylosyltransferase.
- 2.4.2.33 Dolichyl-xylosyl-phosphate--protein xylosyltransferase.
- 2.4.2.34 Indolylacetylinoitol arabinosyltransferase.

- 2.4.2.35 Flavonol-3-O-glycoside xylosyltransferase.
2.4.2.36 NAD(+)-diphthamide ADP-ribosyltransferase.
2.4.2.37 NAD(+)-dinitrogen-reductase ADP-D-ribosyltransferase.
2.4.99.1 Beta-galactosamide alpha-2,6-sialyltransferase.
5 2.4.99.2 Monosialoganglioside sialyltransferase.
2.4.99.3 Alpha-N-acetylgalactosaminide alpha-2,6-sialyltransferase.
2.4.99.4 Beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase.
2.4.99.5 Galactosyldiacylglycerol alpha-2,3-sialyltransferase.
2.4.99.6 N-acetyllactosaminide alpha-2,3-sialyltransferase.
10 2.4.99.7 (Alpha-N-acetyl-neuraminyl-2,3-beta-galactosyl-1,3)-N-
acetylgalactosaminide alpha-2,6-sialyltransferase.
2.4.99.8 Alpha-N-acetyl-neuraminide alpha-2,8-sialyltransferase.
2.4.99.9 Lactosylceramide alpha-2,3-sialyltransferase.
2.4.99.10 Neolactotetraosylceramide alpha-2,3-sialyltransferase.
15 2.4.99.11 Lactosylceramide alpha-2,6-N-sialyltransferase.

Ein Gegenstand der Erfindung ist daher die kostengünstige Derivatisierung von Polyglucan.

- 20 Die Derivatisierung bedeutet im Sinne dieser Erfindung, daß die natürlicherweise im Polyglucan vorkommenden funktionellen Gruppen, Hydroxylgruppen (auch: Alkoholfunktionen), derivatisiert, ersetzt, modifiziert oder chemisch substituiert sind. Unter Derivatisierung wird daher ebenfalls das Einführen von Verzweigungen mittels biogener Stoffe, insbesondere genannter Enzyme verstanden.

- 25 Derivate im Sinne dieser Erfindungen sind ebenfalls jene, die eine Umsetzung spezifisch an einem der C-Atome C-2, C-3 oder C-6 erfahren und zwar von > 0 % bis maximal 100 %, oder das Mischungen auftreten, d.h. unterschiedliche prozentuale Derivatisierungen an unterschiedlichen Positionen im C6 Körper einer
30 Glucaneinheit. Im Fall der Hydroxylgruppe am C-6 Atom des Glucangrundkörpers im Polyglucan können insbesondere vorteilhafterweise Verzweigungsgrade von 1 % bis 40 % erhalten werden. Insbesondere zeichnen sich diese Polyglucanderivate

durch Verzweigungsgrade von 2 % bis 10 % aus. Insbesondere zeichnen sich die Art der Verzweigungen und die Anzahl der Verzweigungen in den beschriebenen Polyglucanderivaten dadurch aus, daß sie sich von denen der natürlichen, das heißt in der Natur vorkommenden Polyglucane, wie sie aus Pflanzen, Tieren oder anderen Organismen gewonnen werden können, unterscheiden können.

Ein weiterer Gegenstand dieser Erfindung ist daher ebenfalls die modifizierte Herstellung von Polyglucan mittels biogener Stoffe. Dies bedeutet im Sinne dieser Erfindung die Zugabe von biogenen Stoffen, bereits während der Expression der Amylosucrase mit anschließender Biotransformation und Synthese der Polyglucane oder Polyglucanderivaten und/oder und/oder die Nachbehandlung mittel biogener Stoffe solcher hergestellten Produkte.

Insbesondere Mischungen von Amylosucrase oder anderen dem Durchschnittsfachmann bekannten Polyglucane synthetisierende Enzyme in der Gegenwart weiterer Moleküle mit enzymatischer Aktivität oder neutralem Verhalten, betreffend der Umsetzung zu Polyglucanen, welche jedoch einen positiven Einfluß auf die Reaktion haben (nach und vorstehend "biogene Stoffe"). Im weitesten Sinne sind hierunter biotische Stoffe zu verstehen, die für biologische Organismen von Nutzen oder unter deren Einfluß stehen, insbesondere bei Stoffwechselvorgängen. Diese Verbesserungen sind: Ausbeutesteigerungen, Verdau von Nebenprodukten (z.B. entstehender Fructose, dessen Abbauprodukte quasi als Nährmedium zum weiteren Polyglucan-Aufbau dienen) und andere für die enzymatische Reaktion bekannte Reaktionsparameter, die dem Durchschnittsfachmann auf dem Gebiet der enzymatischen Reaktionen bekannt sind.

- "biogene" Stoffe können ebenfalls solche sein, welche vorzugsweise folgende Elemente aufweisen: C, H, O, N, P, S, B, Si, Se, S, Alkali-Metalle, Erdalkali-Metalle, Halogene, Co, Fe, Hg,

und/oder

über funktionelle Bindungen, welche von Kohlen-Wasserstoff-Bindungen abweichen, wie: Amid-, Phosphat-, Sulfat-, Carboxy-, Hydroxyl, Carbonyl-, Carbamyl-, Harnstoff-, Urethan-, Ester-, Ether-, Lacton, Lactam,

5

und/oder

- über Stoffklassen wie Peptide, Proteine, Enzyme, Nucleotide und Nukleinsäuren und andere dem Durchschnittsfachmann bekannte Stoffklassen - klassifiziert im Sinne der organischen Chemie

10

und/oder

- eine Verbindung, die eine vorteilhafte biologische Aktivität aufweisen in biologischen Organismen.

15

Insofern können mittels der dargelegten Erfindung folgende Derivate erhalten werden, ohne das die Aufzählung abschließend ist

20

A) Polyglucan-Ester

acetate

nitrate

phosphate

xanthogenate

25

citrate

B) Polyglucan-Ether

hydroxyethyl

hydroxypropyl

30

1,2-dihydroxypropyl

carboxymethyl

C) Polyglucan-Abbauprodukte durch Oxidation oder partielle Ringöffnung
Dialdehydamylose
Carboxyamylose
Persulfat abgebautes Polyglucan

5

D) Natürliche Polymere (naturidentische Polymere / Polyglucane)

Amylopektin

Glykogen

und/oder Pfropfpolymere, Blockpolymere, Copolymere, statistische Copolymere,
alternierende Copolymere und dendritische Copolymere, einschließlich Stern- und
Leiterpolymere sowie Bandpolymere.

10

Der Begriff Copolymer im Sinne dieser Erfindung umfaßt Polyglucan und / oder
Polyglucanderivate aus 2 oder mehr Grundeinheiten (Monomere).

15

Für den Erfindungsgegenstand ist es maßgebend entweder die genannte
Biotransformation in modifizierter Form durchzuführen oder das erhaltene
Polyglucanprodukt nach erfolgter Polymerisation in einer zweiten Reaktion,
bevorzugt einer Biokatalyse, zu verändern. Dies geschieht dadurch, daß das
Polyglucan oder Polyglucanderivat möglichst weitgehendst von allen
Reaktionspartner / Parametern der Biotransformation isoliert und in einer weiteren
Reaktion weiter verändert wird. Dies kann durch die Verwendung des Zusatzes von
weiteren biogenen Verbindungen erfolgen, vorzugsweise Enzymen.

20

Eine andere Einteilung der verschiedenen Reaktionswege zur Herstellung von
Polyglucanen und / oder Polyglucanderivaten kann folgendermaßen beschrieben
werden.

25

Die Modifikation der Polyglucane oder Polyglucanderivate kann darüber erfolgen,
ob nur der Reaktionsverlauf der Biotransformation, also der Umsetzung von
Saccharose und seinen Derivaten zu Polyglucan und / oder Polyglucanderivaten
verändert werden soll (Dies kann zum Beispiel durch den Verzehr der bei der

30

Biotransformation gebildeten Fruktose geschehen), oder es kann durch die Reaktion oder Reaktionsführung bei der Umsetzung von Amylosucrase mit biogenen Stoffen direkt ein Polyglucan und / oder ein oder mehrere Polyglucanderivate gebildet werden. Dabei schließt das eine das andere nicht aus.
5 Als Beispiel ist hier der veränderte Reaktionsverlauf zu nennen, der dadurch entsteht, daß man durch Phosphorylierung und / oder Methylierung und / oder Sulfatierung und / oder weitere Modifikationen eine erhöhte oder eine erniedrigte Löslichkeit des Polyglucans erhält und auf diese Weise zum Beispiel veränderte Kettenlängen o.ä. erhält.

10 Des weiteren können weitere modifizierende Enzyme z.B. im gleichen Operon wie die Amylosucrase kodiert sein, und mit diesem Enzym parallel gereinigt werden. Auf diese Weise entsteht bereits bei der Herstellung und Separation der Amylosucrase ein Mix von verschiedenen biogenen Stoffen, vorzugsweise verschiedenen
15 Enzymen inklusive Amylosucrase, die in einer Biokatalyse (Biotransformation) eingesetzt werden können.

Dem Fachmann sind derartige Mischungen auch unter dem Begriff "Polymerblends" bekannt. Beispielsweise könnten derartige modifizierte Amylosucrasen bewirken,
20 daß in ihrer chemischen Struktur variierte Zucker, Monosaccharide, Disaccharide, Oligosaccharide, besser in die Polymerstruktur eingebunden werden können, im Sinne einer schnelleren Reaktion oder im Sinne einer höheren Verträglichkeit mit anderen monomeren Zuckereinheiten, die in das Polymerrückgrat eingebaut werden. Aber auch ein Kettenabbruch, der zu speziellen funktionellen Molekülen
25 aufgrund ihrer speziellen Polymerendgruppen führen können, die besondere Eigenschaften aufweisen, z.B. oberflächenaktives Verhalten, im weitesten Sinne von amphiphilen Molekülen, führt, ist nicht auszuschließen und kann sogar zur bevorzugten Reaktion werden.

30 Die enzymatisch, durch den Einsatz von biogenen Verbindungen modifizierten Polyglucane können als Ausgangsmaterial für weitere, chemische Modifikationen eingesetzt werden.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung der erfindungsgemäß erhaltenen Polyglucane und/oder Polyglucanderivate, wie folgt:

Verwendung als pharmazeutische und / oder agrochemische Formulierung zur Ausbringung in der Landwirtschaft (wie Tablette, Kapselinhaltsstoff, Suspensionen, Emulsionen und andere dem Durchschnittsfachmann auf den genannten Gebieten bekannten Formulierungen), Wirkstoffträger und/oder Depotformulierung, insbesondere Tablettenhilfsstoff, Verwendung als Lebensmittel und / oder Lebensmittelzusatzstoff, Verwendung als kosmetischer Zusatzstoff. Diese vorteilhaften Verwendungen der erfindungsgemäßen Polyglucane sind begründet in der Wahrung der Biokompatibilität, durch die erfindungsgemäße Verwendung biogener Stoffe.

Wirkstoffe im Sinne dieser Erfindung sind vorzugsweise alle Verbindungen, die für den biologischen Organismus, insbesondere Mensch, Tier, Pflanze, einen pallativen oder kurativen Effekt aufweisen. Dabei fallen unter den Begriff Wirkstoff im allgemeinen Sinn auch agrochemische Verbindungen, mit fungizider, pestizider, insektizider, herbizider Wirkung, jedoch auch allgemein solche Verbindungen, die einen nützlichen Effekt in der Land-, Forst- oder Gartenwirtschaft aufweisen, zum Beispiel Düngemittel. Auch Duft- oder Aromastoffe, die insbesondere im Lebensmittelbereich oder der Kosmetik Anwendungen finden, fallen unter den Begriff Wirkstoff. Insofern werden ausdrücklich alle Wirkstoffe mit einbezogen, die einen therapeutischen und / oder prophylaktischen und / oder dekorativen Effekt aufweisen.

Beispiele

Beschreibung der wichtigsten Sequenzen:

SEQ ID No. 1 beschreibt eine Aminosäuresequenz mit der Aktivität einer Amylosucrase erhältlich mittels Rekombinationstechnologie in E. coli aus einer DNA des Organismus Neisseira polysaccharea und wie in WO 95/31553 und PCT/EP 98/05573 gezeigt.

Beispiel 1:

Die Mischung von Amylosucrase und einem weiteren Enzym einer anderen Aktivität führt zu einem derivatisiertem Amyloseprodukt, wie folgt: Ein Beispiel ist hier die Mischung von Amylosucrase mit der Amylo-1,4→1,6-Transglycosylase. Dieses Enzym katalysiert die Einführung von 1,6-Verzweigungen in linearen Amylose-Molekülen mit einer Mindestlänge von 6-11 Glucoseeinheiten. Dieser Größenbereich liegt genau im Bereich der von der Amylosucrase hergestellten Glucose-Polymere. Es entsteht somit ein stark verzweigtes aber sehr kurzkettiges Molekül.

Zur Durchführung des Experiments werden in einem 10 ml Volumen mit 50 mM NaCitrat-Puffer mit einem pH-Wert von 6.5, 2 g D-Glucose und 0,02% NaN₃ mit 200 U rekombinant hergestellter Amylosucrase versetzt. Zusätzlich werden 10 U der Amylo-1,4→1,6-Trans-glycosylase in den Ansatz gegeben. Der Ansatz wird bei 37°C ohne Durchmischung für 72 h Inkubiert. Die entstehenden Produkte werden mit Ethanol gefällt und über GPC analysiert. Unter den genannten Bedingungen entstehen etwa 0,75 g Polymeres Produkt mit einem Verzweigungsgrad von 10 %.

Patentansprüche:

1. Polyglucan und / oder Polyglucanderivate, erhältlich aus Polyglucansucrase oder Amylosucrase in Gegenwart von mindestens einem biogenen Stoff.
2. Polyglucan und / oder Polyglucanderivate nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß der biogene Stoff mindestens eine Transferase und / oder eine Glycosyltransferase ist.
3. Amylosucrase nach Anspruch 1 und 2 mit einer Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID. No. 1 oder eine redundante Variante.
4. Polyglucanderivat nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Polyglucanderivat ein Polyglucan-Ester oder ein Polyglucan-Ether oder ein naturidentisches Polymer ist.
5. Polyglucanderivat nach Anspruch 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß das Polyglucanderivat ein Propf-, Block-, Co-, statistisches Copolymer oder ein Stern-, Leiter- oder Bandpolymer ist.
6. Verfahren zur Herstellung von Polyglucanen und / oder Polyglucanderivaten nach Anspruch 1-5 dadurch gekennzeichnet, daß Amylosucrase in vitro mit mindestens einem biogenen Stoff versetzt wird.
7. Verwendung von mindestens einem Polyglucan und / oder einem Polyglucanderivat nach Anspruch 1 bis 6 zur Verwendung als Wirkstoffträger.
8. Verwendung von mindestens einem Polyglucan und / oder einem Polyglucanderivat nach Anspruch 1 bis 6 zur Verwendung als Depotsystem für mindestens einen Wirkstoff mit einem therapeutischen oder prophylaktischem Effekt.

9. Verwendung von mindestens einem Polyglucan und / oder einem Polyglucanderivat nach Anspruch 1 bis 6 für den pharmazeutischen Bereich, vorzugsweise Wirkstoffträger und/oder Tablettenhilfsstoff.
- 5 10. Verwendung von mindestens einem Polyglucan und / oder einem Polyglucanderivat nach Anspruch 1 bis 6 für den agrochemischen Bereich, vorzugsweise als Wirkstoffträger.
- 10 11. Verwendung von mindestens einem Polyglucan und / oder einem Polyglucanderivat nach Anspruch 1 bis 6 für kosmetische Anwendungen.
12. Verwendung von mindestens einem Polyglucan und / oder einem Polyglucanderivat nach Anspruch 1 bis 6 als Lebensmittel und / oder Lebensmittelzusatzstoff.
- 15 13. Verwendung von mindestens einem Polyglucan und / oder einem Polyglucanderivat nach Anspruch 1 bis 6 als Träger für Aromen und Duftstoffe.

SEQUENZPROTOKOLL

<110> Aventis Research & Technologies GmbH & Co KG

<120> Polyglucan und Polyglucanderivate erhältlich aus
Amylosucrase biokatalytischer Herstellung und biogener
Stoffe

<130> 98F115

<140> Aktenzeichen wird noch vergeben

<141> Datum wird noch vergeben

<150> 198 46 492.4

<151> 1998-10-09

<160> 1

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 636

<212> PRT

<213> Neisseria polysaccharea

<400> 1

Met Leu Thr Pro Thr Gln Gln Val Gly Leu Ile Leu Gln Tyr Leu Lys
1 5 10 15

Thr Arg Ile Leu Asp Ile Tyr Thr Pro Glu Gln Arg Ala Gly Ile Glu
20 25 30

Lys Ser Glu Asp Trp Arg Gln Phe Ser Arg Arg Met Asp Thr His Phe
35 40 45

Pro Lys Leu Met Asn Glu Leu Asp Ser Val Tyr Gly Asn Asn Glu Ala
50 55 60

Leu Leu Pro Met Leu Glu Met Leu Leu Ala Gln Ala Trp Gln Ser Tyr
65 70 75 80

Ser Gln Arg Asn Ser Ser Leu Lys Asp Ile Asp Ile Ala Arg Glu Asn
85 90 95

Asn Pro Asp Trp Ile Leu Ser Asn Lys Gln Val Gly Gly Val Cys Tyr
100 105 110

Val Asp Leu Phe Ala Gly Asp Leu Lys Gly Leu Lys Asp Lys Ile Pro
115 120 125

Tyr Phe Gln Glu Leu Gly Leu Thr Tyr Leu His Leu Met Pro Leu Phe
130 135 140

Lys Cys Pro Glu Gly Lys Ser Asp Gly Gly Tyr Ala Val Ser Ser Tyr
145 150 155 160

Arg Asp Val Asn Pro Ala Leu Gly Thr Ile Gly Asp Leu Arg Glu Val
165 170 175

Ile Ala Ala Leu His Glu Ala Gly Ile Ser Ala Val Val Asp Phe Ile
180 185 190

Phe Asn His Thr Ser Asn Glu His Glu Trp Ala Gln Arg Cys Ala Ala

195					200					205					
Gly	Asp	Pro	Leu	Phe	Asp	Asn	Phe	Tyr	Tyr	Ile	Phe	Pro	Asp	Arg	Arg
210					215					220					
Met	Pro	Asp	Gln	Tyr	Asp	Arg	Thr	Leu	Arg	Glu	Ile	Phe	Pro	Asp	Gln
225					230					235					240
His	Pro	Gly	Gly	Phe	Ser	Gln	Leu	Glu	Asp	Gly	Arg	Trp	Val	Trp	Thr
				245					250					255	
Thr	Phe	Asn	Ser	Phe	Gln	Trp	Asp	Leu	Asn	Tyr	Ser	Asn	Pro	Trp	Val
			260					265					270		
Phe	Arg	Ala	Met	Ala	Gly	Glu	Met	Leu	Phe	Leu	Ala	Asn	Leu	Gly	Val
		275					280					285			
Asp	Ile	Leu	Arg	Met	Asp	Ala	Val	Ala	Phe	Ile	Trp	Lys	Gln	Met	Gly
290					295					300					
Thr	Ser	Cys	Glu	Asn	Leu	Pro	Gln	Ala	His	Ala	Leu	Ile	Arg	Ala	Phe
305				310					315					320	
Asn	Ala	Val	Met	Arg	Ile	Ala	Ala	Pro	Ala	Val	Phe	Phe	Lys	Ser	Glu
				325					330					335	
Ala	Ile	Val	His	Pro	Asp	Gln	Val	Val	Gln	Tyr	Ile	Gly	Gln	Asp	Glu
			340				345						350		
Cys	Gln	Ile	Gly	Tyr	Asn	Pro	Leu	Gln	Met	Ala	Leu	Leu	Trp	Asn	Thr
		355					360					365			
Leu	Ala	Thr	Arg	Glu	Val	Asn	Leu	Leu	His	Gln	Ala	Leu	Thr	Tyr	Arg
		370				375					380				
His	Asn	Leu	Pro	Glu	His	Thr	Ala	Trp	Val	Asn	Tyr	Val	Arg	Ser	His
385				390					395					400	
Asp	Asp	Ile	Gly	Trp	Thr	Phe	Ala	Asp	Glu	Asp	Ala	Ala	Tyr	Leu	Gly
			405						410					415	
Ile	Ser	Gly	Tyr	Asp	His	Arg	Gln	Phe	Leu	Asn	Arg	Phe	Phe	Val	Asn
			420					425					430		
Arg	Phe	Asp	Gly	Ser	Phe	Ala	Arg	Gly	Val	Pro	Phe	Gln	Tyr	Asn	Pro
		435					440					445			
Ser	Thr	Gly	Asp	Cys	Arg	Val	Ser	Gly	Thr	Ala	Ala	Ala	Leu	Val	Gly
		450				455					460				
Leu	Ala	Gln	Asp	Asp	Pro	His	Ala	Val	Asp	Arg	Ile	Lys	Leu	Leu	Tyr
465				470					475					480	
Ser	Ile	Ala	Leu	Ser	Thr	Gly	Gly	Leu	Pro	Leu	Ile	Tyr	Leu	Gly	Asp
			485					490						495	
Glu	Val	Gly	Thr	Leu	Asn	Asp	Asp	Asp	Trp	Ser	Gln	Asp	Ser	Asn	Lys
			500				505						510		
Ser	Asp	Asp	Ser	Arg	Trp	Ala	His	Arg	Pro	Arg	Tyr	Asn	Glu	Ala	Leu
		515				520						525			
Tyr	Ala	Gln	Arg	Asn	Asp	Pro	Ser	Thr	Ala	Ala	Gly	Gln	Ile	Tyr	Gln

530	535	540
Gly Leu Arg His Met Ile Ala Val Arg Gln Ser Asn Pro Arg Phe Asp 545 550 555 560		
Gly Gly Arg Leu Val Thr Phe Asn Thr Asn Asn Lys His Ile Ile Gly 565 570 575		
Tyr Ile Arg Asn Asn Ala Leu Leu Ala Phe Gly Asn Phe Ser Glu Tyr 580 585 590		
Pro Gln Thr Val Thr Ala His Thr Leu Gln Ala Met Pro Phe Lys Ala 595 600 605		
His Asp Leu Ile Gly Gly Lys Thr Val Ser Leu Asn Gln Asp Leu Thr 610 615 620		
Leu Gln Pro Tyr Gln Val Met Trp Leu Glu Ile Ala 625 630 635		

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

7

Applicant's or agent's file reference 1998/F115 PCT	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP99/07518	International filing date (<i>day/month/year</i>) 07 October 1999 (07.10.99)	Priority date (<i>day/month/year</i>) 09 October 1998 (09.10.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12P 19/18		
Applicant CELANESE VENTURES GMBH		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>5</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of <u>2</u> sheets.</p>
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>

Date of submission of the demand 27 April 2000 (27.04.00)	Date of completion of this report 18 January 2001 (18.01.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP99/07518

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

☐ the international application as originally filed.

☒ the description, pages 1-19, as originally filed,
pages _____, filed with the demand,
pages _____, filed with the letter of _____,
pages _____, filed with the letter of _____.

☒ the claims, Nos. _____, as originally filed,
Nos. _____, as amended under Article 19,
Nos. _____, filed with the demand,
Nos. 1-12, filed with the letter of 27 December 2000 (27.12.2000),
Nos. _____, filed with the letter of _____.

☐ the drawings, sheets/fig _____, as originally filed,
sheets/fig _____, filed with the demand,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

☐ the description, pages _____

☐ the claims, Nos. _____

☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 99/07518

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-12 (see, however, VIII: 1-3)	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-12	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-12 (see, however, VIII: 4)	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

The following document is considered to be the closest prior art:

D1: WO-A-00/14249 (E document; see PCT Rule 64.3).

Novelty (PCT Article 33(2))

1. The claimed process, the end products - see, however, Box VIII, point 1 - and their use are novel over the cited prior art.
2. As regards Claim 2 (= an enzyme), see Box VIII, point 2.

Inventive step (PCT Article 33(3))

Following the combination of the original Claims 1 and 2, in which "biogenic substance" has an inventive definition that is supported by the description, the earlier objection has been withdrawn.

Consequently, an inventive step is acknowledged.

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

1. Claims 1 and 3-4 relate to random polyglucans (and/or their derivatives) which can be obtained using the enzymatic process of preparation. According to the teaching in lines 24-26 on page 2, the activity of an amylosucrase (known) is increased in the presence of a transferase (as per the invention); however, this does not imply that all the end products are necessarily novel; see also Example 1.

A final decision should be made in a later phase as regards the novelty of these undefined compounds (and thus also their use).

[Claim 1 is also unclear, since the enzyme substrate is lacking].

2. SEQ. ID. No. 1 (Claim 2) has not been defined in the description (see page 3, lines 15-17); however, what is implied is sequence 1 from PCT/EP98/05573 (= WO-A-00/14249, E document).
3. It is unclear what is claimed in Claim 4 by the definition "or a natural polymer".
4. Claims 6-10 could also comprise a therapeutic treatment of the human or animal body (PCT Rule 67.1(iv)).
5. The description should be brought into line with the amended set of claims; see pages 1-3 and 13-16.

